

RETE NAZIONALE SU MODELLI SPERIMENTALI E FACILITIES ANIMALI

Gennaro Citro (a), Stefano Fais (b)

(a) *Stabilimento Allevatore Fornitore Utilizzatore, Istituto Regina Elena, Roma*

(b) *Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del Progetto

Il panorama italiano è spesso caratterizzato dalla frammentazione delle attività di gruppi dedicati alla ricerca preclinica che utilizzano modelli sia *in vitro* che *in vivo*, per testare la efficacia di nuove strategie terapeutiche anti-tumorali. Ciò porta ad un evidente spreco di risorse umane ed economiche, nonché ad una caduta di competitività al livello internazionale. È vero infatti che spesso identici modelli sperimentali sono presenti in più strutture di ricerca. Ciò è particolarmente vero per i modelli animali.

La sperimentazione pre-clinica in ambito oncologico si avvale di diversi modelli *in vivo* basati per lo più sull'uso di topi. I tre principali gruppi sono basati sull'uso di:

1. *modelli singenici*, in cui si segue la crescita di tumori spontanei nei topi di vari ceppi;
2. *modelli di topi singenici transgenici o knock-out*, per determinati geni e proteine coinvolti nella tumorigenesi;
3. *modelli xenochimerici*, nei quali cellule di tumore umano vengono inoculate in topi immunodeficienti (SCID o Nude) dove crescono sotto forma di tumore solido.

Un centro di sperimentazione pre-clinica in oncologia dovrebbe contenere almeno questi modelli per essere competitivo. A ciò si possono aggiungere i primati non umani, ormai considerati di unico riferimento per la sperimentazione pre-clinica di farmaci biotecnologici. Sul territorio nazionale i centri di questo tipo sono a tutt'oggi veramente pochi. Risulta di vitale importanza quindi definire e consolidare una rete scientifica e tecnologica nazionale proiettata a livello internazionale e orientata alla ricerca traslazionale in oncologia.

Una rete che coordini i centri nei quali sono già presenti modelli sperimentali per studi pre-clinici, in particolare modelli animali, consentirà a enti pubblici e privati un uso più razionale e proficuo di tali modelli. Inoltre, il coordinamento di tale rete, e quindi la disponibilità di più modelli sperimentali, potrà consentire il convergere di nuovi finanziamenti alle singole strutture al fine di implementare, incrementare e migliorare i modelli esistenti e consentire un maggiore accesso ai progetti di ricerca europei (es. FP7) che richiedono l'utilizzo di un set di modelli sperimentali in oncologia.

Nell'ambito della rete sarà possibile anche stabilire delle linee guida, finora inesistenti, per l'utilizzo razionale dei modelli preclinici in oncologia.

La fruizione e la ottimizzazione di tali strutture nell'ambito di una rete nazionale sarà inoltre affiancata da corsi di formazione annuali per personale addetto alla messa a punto ed all'uso sperimentale dei modelli animali che consentiranno uno scambio continuo di informazione fra i vari gruppi e la creazione di nuova massa critica in questo settore basilare della ricerca oncologica.

Fine importante di questa rete nazionale su modelli pre-clinici in ambito oncologico sarà di poter consentire la partecipazione moderna e competitiva ad infrastrutture europee già previste (es. EATRIS: European Advanced Translational Research Infrastructure in Medicine).

Per riassumere gli obiettivi principali di questa rete saranno:

1. creare una nuova generazione di tecnici e ricercatori in grado di assicurare affidabilità e continuità alle attività svolte dai centri presenti nella rete, attraverso corsi annuali di formazione teorico-pratica;
2. migliorare e rinnovare i modelli pre-clinici sia *in vitro* che *in vivo*, allo scopo di ottenere modelli che siano quanto più possibile vicini ai tumori presenti nei pazienti;
3. stabilire il livello di adeguatezza dei modelli nell'ambito dell'utilizzo pre-clinico, ed i costi-benefici dell'utilizzo dei vari modelli;
4. attivare connessioni strategiche operative con il mondo dell'industria biomedica in modo da affrontare e possibilmente risolvere le problematiche più attuali e di maggior rilievo;
5. prevedere l'uso, lo sviluppo e la diffusione di nuove strumentazioni biomediche sempre più all'avanguardia e la condivisione delle stesse.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

In linea con il progetto iniziale, tutte le unità operative hanno continuato a generare sia modelli animali che metodologie nuove finalizzate alla lotta contro il cancro. I risultati di tali attività, oltre che essere riportati nei lavori pubblicati, saranno inseriti nell'area dedicata nel sito allestito nel corso del primo anno di attività (www.iss.it/onet). L'accesso al sito, come già descritto, ha il duplice scopo di mettere a disposizione di chiunque informazioni sulle attività aggiornate della rete e di rendere semplice qualsiasi procedura di comunicazione/collaborazione tra le UO che hanno aderito alla costituzione della rete. L'informazione dell'esistenza della rete, inoltre, dà la possibilità ad altre strutture di aderire ed ampliare quindi la potenzialità di disponibilità dei modelli sperimentali pre-clinici in oncologia. Grazie alla professionalità e competenze del personale informatico dell'ISS il sito è stato strutturato in diverse sezioni tra cui un archivio, in continuo aggiornamento, dove è possibile venire a conoscenza di: a) tutti i modelli sperimentali disponibili, sia cellulari che animali, presenti nelle strutture della rete e quindi sul territorio nazionale; b) tutte le *facilities* disponibili nell'ambito della sperimentazione pre-clinica in ambito oncologico, l'ubicazione delle stesse, con i nomi dei ricercatori responsabili a cui far riferimento. Tale attività ha permesso l'uso di uno strumento totalmente nuovo, che mette a disposizione di sperimentatori pubblici e privati un archivio dei modelli pre-clinica in oncologia presenti in Italia. Fra le novità di maggior interesse emerse nell'ultimo anno, vi sono i modelli per lo studio delle cellule staminali tumorali. Di rilievo sono le informazioni circa il ruolo di p21 nel compartimento staminale del sistema ematopoietico e del Ca mammario. L'impiego di topi p21-/- incrociati con topi MMTV-ErbB2 daranno ulteriori informazioni sul ruolo di p21 sia nella tumori genesi che sulla crescita della cellula staminale. Un altro dato di interesse è l'evidenza del ruolo svolto dal sistema dell'Insulin like growth factor nella metastatizzazione epatica dei sarcomi. Su tale tumore è stato anche dimostrato come un inibitore specifico di PI3K ed mTOR inibisce la proliferazione cellulare *in vitro* ed *in vivo*, associato alla vincristina presenta efficacia antitumorale sul sarcoma di Ewing TC71 in xenotrapianti. Lo stesso inibitore, somministrato in associazione con convenzionali antitumorali, ha ridotto significativamente il potenziale metastatico del Rabbdomiosarcoma. Per quanto riguarda lo studio dei meccanismi molecolari che legano il controllo della proliferazione cellulare alla regolazione del movimento e della invasione tumorale è stato dimostrato che due proteine (p27KIP1 e stathmin1), sono coinvolte anche nel controllo della motilità cellulare, nel passaggio da morfologia allungata ad ameboide. I livelli relativi di p27 e stathmin all'interno della cellula sono in grado di influenzare oltre che la proliferazione anche il movimento con p27 che funge da inibitore e stathmin da stimolatore della migrazione e

dell'invasione di cellule normali e tumorali. Inoltre, sono stati valutati anche l'efficacia terapeutica di associazioni farmacologiche di nuove molecole con farmaci già in uso clinico.

Mediante un trattamento combinato della molecola pro-apoptotica modificata EMILIN2 con Bevacizumab si sono ottenute regressioni complete di sarcomi nel topo nudo.

Nell'ambito delle nuove strategie terapeutiche sono state eseguite somministrazioni mediante elettrochemioterapia per incrementare l'indice terapeutico ed i risultati sono in corso di valutazione. Per quanto riguarda gli studi sul ruolo dei linfociti T nella risposta antitumorale, si sono implementate le tipologie di modelli sperimentali. Fra questi il modello umanizzato di crescita di leucemie mieloidi acute umane in topi immunodeficienti, utilizzando sia NOD/scid che NSG (privi non solo di linfociti T e B ma anche di cellule NK, a causa della mutazione della catena gamma del CD132). Il modello NSG rappresenta un idoneo strumento per validare l'approccio bio-terapeutico combinato alla leucemia mieloide acuta basato sul bersagliamento delle molecole CD1, la cui espressione è ristretta ai blasti leucemici e a cellule mielo-monocitiche differenziate normali. La rete ha inoltre dimostrato capacità aggregante con reti locali ed istituzioni di ricerca, non dotate di animal facility, come avvenuto per l'unità operativa dell'Istituto Pascale di Napoli, in grado di stipulare convenzioni con il Dipartimento di Medicina Sperimentale della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli studi "Magna Graecia" in Catanzaro; con il Dipartimento DIFARMA della Facoltà di Farmacia dell'Università degli studi di Salerno, in Fisciano; con il Centro di Endocrinologia Oncologica Sperimentale del CNR, in Napoli. Infine, l'introduzione nella rete di un nuovo approccio per la valutazione *in vivo* di nuove strategie anti-tumorali realizzato l'anno scorso su modelli di tumore spontaneo in animali da compagnia quali cani e gatti ha avuto ulteriori sviluppi per nuovi approcci diagnostici e terapeutici. I cani e gatti possono essere considerati singoli pazienti, in quanto la patologia è simile a quella dell'uomo e viene curata con protocolli terapeutici identici. Inoltre, gli animali da compagnia costituiscono "spie biologiche" dell'ambiente nel quale convivono con la specie umana, avendo spesso stili di vita controllati (alimentazione, no fumo attivo, no alcool ecc.). In conclusione la rete sui modelli pre-clinici in oncologia è stata costituita ed è operativa sul territorio nazionale grazie al programma 2 di ACC. Lo sforzo da tutti prodotto in questi anni ha sicuramente fornito un nuovo strumento di ampio utilizzo nella ricerca pre-clinica su nuovi approcci diagnostici e terapeutici nei confronti dei tumori.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione della Rete nazionale sui modelli sperimentali e *facilities* animali

Proponente (<i>Coodinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
IRE (<i>Gennaro Citro</i>) ISS (<i>Stefano Fais</i>)	Humanitas	Alberto Mantovani
	IEO	Giuseppina Bonizzi
	IOR	Lorena Landuzzi
	ISS	Lucia Gabriele
	CRO	Alfonso Colombatti
	ISTGE	Michele Cilli
	IRE	Gennaro Citro
	Pascale	Claudio Arra
	HSR	Paolo Dellabona

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Accardo A, Mansi R, Morisco A, Mangiapia G, Paduano L, Tesauro D, Radulescu A, Aurilio M, Aloj L, Arra C, Morelli G. Peptide modified nanocarriers for selective targeting of bombesin receptors. *Mol Biosyst* 2010;6:878-87.
2. Accardo A, Tesauro D, Aloj L, Tarallo L, Arra C, Mangiapia G, Vaccaro M, Pedone C, Paduano L, Morelli G. Peptide-containing aggregates as selective nanocarriers for therapeutics. *Chem Med Chem* 2008;3:594-602.
3. Airoidi I, Cocco C, Giuliani N, Ferrarini M, Colla S, Ognio E, Taverniti G, Di Carlo E, Cutrona G, Perfetti V, Rizzoli V, Ribatti D, Pistoia V. Constitutive expression of IL12Rbeta2 on human multiple myeloma cells delineates a novel therapeutic target. *Blood* 2008;112:750-9.
4. Airoidi I, Di Carlo E, Cocco C, Caci E, Cilli M, Sorrentino C, Sozzi G, Ferrini S, Rosini S, Bertolini G, Truini M, Grossi F, Galletta L, Ribatti D, Pistoia V. IL12 can target human lung adenocarcinoma cells and normal bronchial epithelial cells surrounding tumor lesions. *PLoS One* 2009;4:e6119;1-e6119;11.
5. Ammirante M, Rosati A, Arra C, Basile A, Falco A, Festa M, Pascale M, d'Avenia M, Marzullo L, Belisario MA, De Marco M, Barbieri A, Giudice A, Chiappetta G, Vuttariello E, Monaco M, Bonelli P, Salvatore G, Di Benedetto M, Deshmane SL, Khalili K, Turco MC, Leone A. IKK γ protein is a target of BAG3 regulatory activity in human tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:7497-502.
6. Assin R, Baldi A, Citro G, Spugnini EP. Prostate as sole unusual recurrence site of lymphoma in a dog. *In vivo* 2008;22:755-7.
7. Baldi A, Mottotese M, Vincenzi B, Campioni M, Mellone P, Di Marino M, di Crescenzo VG, Visca P, Menegozzo S, Spugnini EP, Citro G, Ceribelli A, Mirri A, Chien J, Shridhar V, Ehrmann M, Santini M, Facciolo F. The serine protease HtrA1 is a novel prognostic factor for human mesothelioma. *Pharmacogenomics* 2008;9:1069-77.
8. Belletti B, Pellizzari I, Berton S, Fabris L, Wolf K, Lovat F, Schiappacassi M, D'Andrea S, Nicoloso MS, Lovisa S, Sonogo M, Defilippi P, Vecchione A, Colombatti A, Friedl P, Baldassarre G. p27kip1 controls cell morphology and motility by regulating microtubule-dependent lipid raft recycling. *Mol Cell Biol* 2010;30:2229-40.
9. Bellone M, Ceccon M, Grioni M, Jachetti E, Calcinotto A, Napolitano A, Freschi M, Casorati G, Dellabona P. iNKT cells control mouse spontaneous carcinoma independently of tumor-specific cytotoxic T cells. *PLoS One* 2010;5:e8646.
10. Berardi AC, Marsilio S, Rofani C, Salvucci O, Altavista P, Perla FM, Diomedi-Camassei F, Uccini S, Kokai G, Landuzzi L, McDowell HP, Dominici C. Up-regulation of EphB and ephrin-B expression in rhabdomyosarcoma. *Anticancer Res* 2008;28:763-9.
11. Bertino P, Piccardi F, Porta C, Favoni R, Cilli M, Mutti L, Gaudino G. Imatinib mesylate enhances therapeutic effects of gemcitabine in human malignant mesothelioma xenografts. *Clin Cancer Res* 2008;14:541-548.
12. Berton S, Belletti B, Wolf K, Canzonieri V, Lovat F, Vecchione A, Colombatti A, Friedl P, Baldassarre G. The tumor suppressor functions of p27kip1 include the control of mesenchymal/amoeboid transition. *Mol Cell Biol* 2009;29:5031-5045.
13. Bifulco K, Longanesi-Cattani I, Gala M, Di Carluccio G, Masucci MT, Pavone V, Arra C, Stoppelli MP, Carriero MVJ The soluble form of urokinase receptor promotes angiogenesis through its SER(88) -ARG-SER-ARG-TYR(92) chemotactic sequence. *J Thromb Haemost* 2010;8:2789-99.

14. Biocca S, Filesi I, Mango R, Maggiore L, Baldini F, Vecchione L, Viola A, Citro G, Federici G, Romeo F, Novelli G. The splice variant LOXIN inhibits LOX-1 receptor function through hetero-oligomerization. *J Mol Cell Cardiol* 2008;44:561-70.
15. Bonizzi G, Cicalese A, Pasi CE, Faretta M, Ronzoni S, Giulini B, Brisken C, Minucci S, Di Fiore PP, Pelicci PG. The tumor suppressor p53 regulates polarity of self-renewing divisions in mammary stem cells. *Cell* 2009;138:1083-95.
16. Brignole C, Marimpietri D, Pastorino F, Di Paolo D, Pagnan G, Loi M, Piccardi F, Cilli M, Tradori Cappai A, Arrigoni G, Pistoia V, Ponzoni M. Anti IL/10R antibody improves the therapeutic efficacy of targeted liposomal oligonucleotides. *J Control Release* 2009;138:122-7.
17. Campioni M, Ambrogi V, Pompeo E, Citro G, Castelli M, Spugnini EP, Gatti A, Cardelli P, Lorenzon L, Baldi A, Mineo TC. Identification of genes down-regulated during lung cancer progression: a cDNA array study. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;15:27:38..
18. Carriero MV, Longanesi-Cattani I, Bifulco K, Maglio O, Lista L, Barbieri A, Votta G, Masucci MT, Arra C, Franco R, De Rosa M, Stoppelli MP, Pavone V. Structure-based design of an urokinase-type plasminogen activator receptor-derived peptide inhibiting cell migration and lung metastasis. *Mol Cancer Ther* 2009;8:2708-17.
19. Crispi S, Calogero RA, Santini M, Mellone P, Vincenzi B, Citro G, Vicidomini G, Fasano S, Meccariello R, Cobellis G, Menegozzo S, Pierantoni R, Facciolo F, Baldi A, Menegozzo M. Global gene expression profiling of human pleural mesotheliomas: identification of matrix metalloproteinase 14 (MMP-14) as potential tumour target. *PLoS One* 2009;4:e7016.
20. Crispi S, Cardillo I, Spugnini EP, Citro G, Menegozzo S, Baldi A. Biological agents involved in malignant mesothelioma: relevance as biomarkers or therapeutic targets. *Curr Cancer Drug Targets* 2010;10:19-26.
21. Danussi C, Petrucco A, Wassermann B, Colombatti A, Spessotto P. Skin proliferation is negatively regulated through EMILIN1- α 4/ α 9 integrin interaction. *J Cell Biol* (inviato per la pubblicazione)
22. De Giovanni C, Landuzzi L, Nicoletti G, Lollini PL, Nanni P. Molecular and cellular biology of rhabdomyosarcoma. *Future Oncology* 2009;5:1449-1475.
23. De Luca A, De Falco M, Manente L, Dattilo D, Lucariello A, Esposito V, Gnarini M, Citro G, Baldi A, Tufano MA, Iaquinto G. Helicobacter pylori heat shock protein B (HspB) localizes *in vivo* in the gastric mucosa and MALT lymphoma. *J Cell Physiol* 2008;216:78-82.
24. De Nigris F, Crudele V, Giovane A, Casamassimi A, Giordano A, Garban HJ, Cacciatore F, Pentimalli F, Marquez-Garban DC, Petrillo A, Cito L, Sommese L, Fiore A, Petrillo M, Siani A, Barbieri A, Arra C, Rengo F, Hayashi T, Al-Omran M, Ignarro LJ, Napoli C. CXCR4/YY1 inhibition impairs VEGF network and angiogenesis during malignancy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:14484-9.
25. De Nigris F, Rossiello R, Schiano C, Arra C, Williams-Ignarro S, Barbieri A, Lanza A, Balestrieri A, Giuliano MT, L. Ignarro J, Napoli C. Deletion of YY1 in osteosarcoma cells on cell invasion and CXCR4/angiogenesis and metastasis. *Cancer Research* 2008;68:1797-808.
26. Di Agostino S, Cortese G, Monti O, Dell'orso S, Sacchi A, Eisenstein M, Citro G, Strano S, Blandino G. The disruption of the protein complex mutantp53/p73 increases selectively the response of tumor cells to anticancer drugs. *Cell Cycle* 2008;16:7:3440-7.
27. Di Gennaro E, Piro G, Chianese MI, Franco R, Cintio AD, Moccia T, Luciano A, de Ruggiero I, Bruzzese F, Avallone A, Arra C, Budillon A. Vorinostat synergises with capecitabine through upregulation of thymidine phosphorylase. *Br J Cancer* 2010;103:1680-91.
28. Ehlers S, Mueck T, Adams S, Landuzzi L, Lollini PL, Munz B. RIP2 regulates growth and differentiation of normal myoblasts and of rhabdomyosarcoma cells. *Eur J Cell Biol* 2008;87:163-72.

29. Fedele M, Palmieri D, Chiappetta G, Pasquinelli R, De Martino I, Arra C, Palma G, Valentino T, Pierantoni GM, Viglietto G, Rothstein JL, Santoro M, Fusco A. Impairment of the p27kip1 function enhances thyroid carcinogenesis in TRK-T1 transgenic mice. *Endocr Relat Cancer* 2009;16:483-90.
30. Fedele M, Visone R, De Martino I, Palmieri D, Valentino T, Esposito F, Klein-Szanto A, Arra C, Ciarmiello A, Croce CM, Fusco A. Expression of a truncated Hmga1b gene induces gigantism, lipomatosis and B-cell lymphomas in mice. *Eur J Cancer* 2010 Oct 31 (online prima della stampa)
31. Fedeli M, Napolitano A, Wong MP, Marcais A, de Lalla C, Colucci F, Merkenschlager M, Dellabona P, Casorati G. Dicer-dependent microRNA pathway controls invariant NKT cell development. *J Immunol* 2009;183:2506-12.
32. Felici A, Di Segni S, Milella M, Colantonio S, Sperduti I, Nuvoli B, Contestabile M, Sacconi A, Zaratti M, Citro G, Cognetti F. Pharmacokinetics of gemcitabine at fixed-dose rate infusion in patients with normal and impaired hepatic function. *Clin Pharmacokinet* 2009;48:131-41.
33. Fenoglio C, Grosso A, Petrillo G, Boncompagni E, Aiello C, Cordazzo C, Spinelli D, Ognio E, Mariggì M, Cassano A, Viale M. A histochemical approach to the evaluation of the *in vivo* cytotoxicity of the nitrobutadienes (1E,3E)/1,4/bis(1/naphthyl)/2,3/dinitro/1,3/butadiene and methyl (2Z,4E)/2/methylsulfanyl/5/(1/naphthyl)/4/nitro/2,4/pentadiene in mice liver and kidney. *Anticancer Res* 2008;28:813-23.
34. Franceschini V, Bettini S, Pifferi S, Rosellini A, Menini A, Saccardi R, Ognio E., Jeffery R., Poulsom R., Revoltella R. Human cord blood CD133+ stem cells transplanted to Nod Scid mice provide conditions for regeneration of olfactory neuroepithelium after permanent damage induced by dichlobenil. *Stem Cells* 2009;27:825-35.
35. Giannicola G, Ferrari E, Citro G, Sacchetti B, Corsi A, Riminucci M, Cinotti G, Bianco P. Graft vascularization is a critical rate-limiting step in skeletal stem cell-mediated posterolateral spinal fusion. *J Tissue Eng Regen Med* 2010;4:273-83.
36. Giudice A, Arra C, Turco MC. Review of molecular mechanisms involved in the activation of the Nrf2-ARE signaling pathway by chemopreventive agents. *Methods Mol Biol* 2010;647:37-74.
37. Giudice A, Caraglia M, Marra M, Montella M, Maurea N, Abbruzzese A, Arra C. Circadian rhythms, adrenergic hormones and trafficking of hematopoietic stem cells. *Expert Opin Ther Targets* 2010;14:567-75.
38. Ierano C, Giuliano P, D'Alterio C, Cioffi M, Mettievier V, Portella L, Napolitano M, Barbieri A, Arra C, Liguori G, Franco R, Palmieri G, Rozzo C, Pacelli R, Castello G, Scala S. A point mutation (G574A) in the chemokine receptor CXCR4 detected in human cancer cells enhances migration. *Cell Cycle* 2009;8:1228-37.
39. Lama A, Viale M, Cilli M, Bruzzo C, Novelli F, Tasso B, Sparatore F. *In vitro* cytotoxic activity of tri/n-butyltin(IV)lupinylsulfide hydrogen fumarate (IST/FS 35) and preliminary antitumor activity *in vivo*. *Invest New Drugs* 2009;27:124-30.
40. Lorenzon D, Mazzucato M, Abbruzzese L, Cilli M, De Angeli S, Degan M, Mambrini G, Piccardi F, Rupolo M, Michieli M, De Marco L, Gattei V, Astori G. Preclinical *ex vivo* expansion of peripheral blood CD34+ selected cells from cancer patients mobilized with combination chemotherapy and granulocyte colony stimulating factor. *Vox Sang* 2008;94:342-50.
41. Manara MC, Nicoletti G, Zambelli D, Ventura S, Guerzoni C, Landuzzi L, Lollini PL, Maira SM, Garcia-Echeverria C, Mercuri M, Picci P. NVE-BEZ235 as a new therapeutic option for sarcomas. *Clin Cancer Res* 2010;16:530-40.
42. Manente L, Perna A, Buommino E, Altucci L, Lucariello A, Citro G, Baldi A, Iaquinto G, Tufano MA, De Luca A. The *Helicobacter pylori*'s protein VacA has direct effects on the regulation of cell cycle and apoptosis in gastric epithelial cells. *J Cell Physiol* 2008;214:582-7.

43. Marra M, Giudice A, Arra C, Vitale G, Castiglioni S, Nasti G, Lombardi A, Ottaiano A, Facchini G, Iaffaioli RV, Abbruzzese A, Caraglia M. Target-based agents in neo-adjuvant treatment of liver metastases from colo-rectal cancer: Secret weapons in anti-cancer war? *Cancer Biol Ther* 2009;8:18.
44. Marra M, Giudice A, Arra C, Vitale G, Castiglioni S, Nasti G, Lombardi A, Ottaiano A, Facchini G, Iaffaioli RV, Abbruzzese A, Caraglia M. Target-based agents in neoadjuvant treatment of liver metastases from colorectal cancer: secret weapons in anti-cancer war? *Cancer Biol Ther* 2009;8:1709-18.
45. Matis S-Mariani MR, Cutrona G, Cilli M, Piccardi F, Daga A, Damonte G, Millo E, Moroni M, Roncella S, Fedeli F, Boffa LC, Ferrarini M. PNAEmu can significantly reduce Burkitt's lymphoma tumor burden in a SCID mice model: cells dissemination similar to the human disease. *Cancer Gene Ther* 2009;16:786-793.
46. Miretti S, Roato I, Tauli R, Ponzetto C, Cilli M, Olivero M, Di Renzo M, Godio L, Albini A, Buracco P, Ferracini R. A mouse model of pulmonary metastasis from spontaneous osteosarcoma monitored *in vivo* by luciferase imaging. *PLoS One* 2008;3:e1828;1-e1828;8.
47. Molfino A, Muscaritoli M, Cascino A, Fanfarillo F, Fava A, Bertini G, Citro G, Rossi Fanelli F, Laviano A. Free tryptophan/large neutral amino acids ratios in blood plasma do not predict cerebral spinal fluid tryptophan concentrations in interleukin-1-induced anorexia. *Pharmacol Biochem Behav* 2008;89:31-5.
48. Mongiat M, Marastoni S, Ligresti G, Lorenzon E, Schiappacassi M, Perris R, Frustaci S, Colombatti A. The pro-apoptotic extracellular matrix glycoprotein EMILIN2 affects tumor growth via a 90 residues long N-terminal region. *Neoplasia* 2010;12:294-304.
49. Nanni P, Nicoletti G, Landuzzi L, Croci S, Murgo A, Palladini A, Antognoli A, Ianzano ML, Stivani V, Grosso V, Maira SM, Garcia-Echeverria C, Scotlandi K, De Giovanni C, Lollini PL. High metastatic efficiency of human sarcoma cells in Rag2/gamma c double knockout mice provides a powerful test system for antimetastatic drug therapy. *Eur J Cancer* 2010;46:659-68.
50. Nobbio L, Fiorese F, Vigo T, Cilli M, Gherardi G, Grandis M, Melcangi R, Mancardi G, Abbruzzese M, Schenone A. Impaired expression of ciliary neurotrophic factor in Charcot Marie Tooth type 1A neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009;68:441-55.
51. Pagnan G, Di Paolo D, Carosio R, Pastorino F, Marimpietri D, Brignole C, Pezzolo A, Loi M, Galletta L, Piccardi F, Cilli M, Nico B, Ribatti D, Pistoia V, Ponzoni M. The combined therapeutic effects of bortezomib and fenretinide on neuroblastoma cells involve endoplasmic reticulum stress response. *Clin Cancer Res* 2009;15:1199-209.
52. Palmieri C, Falcone C, Iaccino E, Tuccillo FM, Gaspari M, Trimboli F, De Laurentiis A, Luberto L, Pontoriero M, Pisano A, Vecchio E, Fierro O, Panico MR, Larobina M, Gargiulo S, Costa N, Dal Piaz F, Schiavone M, Arra C, Giudice A, Palma G, Barbieri A, Quinto I, Scala G. *In vivo* targeting and growth inhibition of the A20 murine B-cell lymphoma by an idiotype-specific peptide binder. *Blood* 2010;116:226-38.
53. Pantaleo MA, Nannini M, Maleddu A, Fanti S, Nanni C, Boschi S, Lodi F, Nicoletti G, Landuzzi L, Lollini PL, Biasco G. Experimental results and related clinical implications of PET detection of epidermal growth factor receptor (EGFr) in cancer. *Ann Oncol* 2009;20:213-26.
54. Pastorino F, Di Paolo D, Piccardi F, Nico B, Ribatti D, Daga A, Baio G, Neumaier C, Brignole C, Loi M, Marimpietri D, Pagnan G, Cilli M, Lepekkin E, Garde S, Longhi R, Corti A, Allen T, Wu J, Ponzoni M. Enhanced antitumor efficacy of clinical grade vasculature targeted liposomal doxorubicin. *Clin Cancer Res* 2008;14:7320-9.
55. Pellegatti P, Raffaghello L, Bianchi G, Piccardi F, Pistoia V, Di Virgilio F. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: *in vivo* imaging with plasma membrane luciferase. *PLoS One* 2008;3:e2599;1-e2599;9.

56. Perdonà S, Cavadas V, Di Lorenzo G, Damiano R, Chiappetta G, Del Prete P, Franco R, Azzarito G, Scala S, Arra C, De Sio M, Autorino R. Prostate Cancer Detection in the “Grey Area” of Prostate-Specific Antigen Below 10 ng/ml: Head-to-Head Comparison of the Updated PCPT Calculator and Chun’s Nomogram, Two Risk Estimators Incorporating Prostate Cancer Antigen 3. *Eur Urol* 2010 Oct 12 (online prima della stampa)
57. Pietra G, Manzini C, Vitale M, Balsamo M, Ognio E, Boitano M, Queirolo P, Moretta L, Mingari MC. Natural killer cells kill human melanoma cells with characteristics of cancer stem cells. *Int Immunol* 2009;21:793-801.
58. Ponassi R, Biasotti B, Tomati V, Bruno S, Poggi A, Malacarne D, Cimoli G, Salis A, Pozzi S, Miglino M, Damonte G, Cozzini P, Spyraiki F, Campanini B, Bagnasco L, Castagnino N, Tortolina L, Mumot A, Frassoni F, Daga A, Cilli M, Piccardi F, Monfardini I, Perugini M, Zoppoli G, D’arrigo C, Pesenti R, Parodi S. A novel Bim/BH3 derived Bcl/X(L) inhibitor. Biochemical characterization, *in vitro*, *in vivo* and *ex vivo* anti leukemic activity. *Cell Cycle* 2008;7:3211-24.
59. Revoltella R, Papini S, Rosellini A, Michelini M, Franceschini V, Ciorba A, Bertolaso L, Magosso S, Hatzopoulos S, Lorito G, Giordano P, Simoni E, Ognio E, Cilli M, Saccardi R, Urbani S, Jeffery R, Poulson R, Martini A. Cochlear repair by transplantation of human cord blood CD133+ cells to No Scid mice made deaf with kanamycin and noise. *Cell Transplant* 2008;17:665-78.
60. Romano S, D’Angelillo A, Pacelli R, Staibano S, De Luna E, Bisogni R, Eskelinen EL, Mascolo M, Cali G, Arra C, Romano MF. Role of FK506-binding protein 51 in the control of apoptosis of irradiated melanoma cells. *Cell Death Differ* 2010;17:145-57.
61. Ruocco LA, Carnevale UA, Treno C, Sadile AG, Melisi D, Arra C, Ibba M, Schirru C, Carboni E. Prepuberal subchronic methylphenidate and atomoxetine induce different long-term effects on adult behaviour and forebrain dopamine, norepinephrine and serotonin in Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2010;210:99-106.
62. Ruocco LA, Di Pizzo A, Carnevale UA, Murolo M, Sadile AG, Arra C, Topo E, D’Aniello A, Curcio A, Melisi D, Rimoli MG. Excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats: neurochemical and behavioural effects of subchronic D-aspartate and its diethyl ester prodrug. *Behav Brain Res* 2009;198:37-44.
63. Ruocco LA, Di Pizzo A, Carnevale UA, Murolo M, Sadile AG, Arra C, Topo E, D’Aniello A, Curcio A, Melisi D, Rimoli MG. Excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats: neurochemical and behavioural effects of subchronic D-aspartate and its diethyl ester prodrug. *Behav Brain Res* 2009;198:37-44.
64. Ruocco LA, Gironi Carnevale UA, Sadile AG, Sica A, Arra C, Di Maio A, Topo E, D’Aniello A. Elevated forebrain excitatory L-glutamate, L-aspartate and D-aspartate in the Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2009;198:24-8.
65. Ruocco LA, Gironi Carnevale UA, Sica A, Arra C, Topo E, Di Giovanni M, D’Aniello A, Sadile AG. Differential prepuberal handling modifies behaviour and excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2009;198:29-36.
66. Signorile PG, Spugnini EP, Mita L, Mellone P, D’Avino A, Bianco M, Diano N, Caputo L, Rea F, Viceconte R, Portaccio M, Viggiano E, Citro G, Pierantoni R, Sica V, Vincenzi B, Mita DG, Baldi F, Baldi A. Pre-natal exposure of mice to bisphenol A elicits an endometriosis-like phenotype in female offspring. *Gen Comp Endocrinol* 2010;168:318-25.
67. Sorrentino R, Morello S, Giordano MG, Arra C, Maiolino P, Adcock IM, Pinto A. CpG-ODN increases the release of VEGF in a mouse model of lung carcinoma. *Int J Cancer* 2010 Aug 19 (online prima della stampa)
68. Sorrentino R, Morello S, Luciano A, Crother TR, Maiolino P, Bonavita E, Arra C, Adcock IM, Arditi M, Pinto A. Plasmacytoid dendritic cells alter the antitumor activity of CpG-oligodeoxynucleotides in a mouse model of lung carcinoma. *J Immunol* 2010;185:4641-50.

69. Spugnini EP, Campioni M, D'Avino A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Cell-cycle molecules in mesothelioma: an overview. *J Exp Clin Cancer Res* 2007;26:443-9.
70. Spugnini EP, Citro G, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy in veterinary patients: a model for the planning of future therapies in humans. *J Exp Clin Cancer Res* 2009;28:114.
71. Spugnini EP, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Potential role of electrochemotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma: first insights from preclinical studies in animals. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40(2):159.
72. Spugnini EP, Citro G, Dotsinsky I, Mudrov N, Mellone P, Baldi A. Ganglioneuroblastoma in a cat: a rare neoplasm treated with electrochemotherapy. *Vet J* 2008;178:291-3.
73. Spugnini EP, Citro G, Fais S. Proton pump inhibitors as anti vacuolar-ATPases drugs: a novel anticancer strategy. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:44.
74. Spugnini EP, Crispi S, Scarabello A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Piroxicam and intracavitary platinum-based chemotherapy for the treatment of advanced mesothelioma in pets: preliminary observations. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;27:6.
75. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Bufalini M, Giannini G, Citro G, Feroce F, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for incompletely excised anal sac carcinoma in a dog. *In vivo* 2008;22:47-9.
76. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Caruso G, Cardelli P, Baldi A. Electrochemotherapy-induced radiation recall in a cat. *In vivo* 2008;22:751-3.
77. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Biphasic pulses enhance bleomycin efficacy in a spontaneous canine genital tumor model of chemoresistance: Sticker sarcoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;3;27:58.
78. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, De Luca A, Codini C, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Successful rescue of an apocrine gland carcinoma metastatic to the cervical lymph nodes by mitoxantrone coupled with trains of permeabilizing electrical pulses (electrochemotherapy). *In vivo* 2008;22:51-3.
79. Spugnini EP, Filipponi M, Romani L, Dotsinsky I, Mudrov N, Baroni A, Ruocco E, Laieta MT, Montesarchio V, Cassandro R, Citro G, Baldi A. Local control and distant metastasis after electrochemotherapy of a canine anal melanoma. *In vivo* 2007;21:897-9.
80. Spugnini EP, Filipponi M, Romani L, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Baldi A. Electrochemotherapy treatment for bilateral pleomorphic rhabdomyosarcoma in a cat. *J Small Anim Pract* 2010;51:330-2.
81. Spugnini EP, Gargiulo M, Assin R, D'Avino A, Mellone P, Citro G, Cardelli P, Baldi A. Adjuvant carboplatin for the treatment of intestinal carcinoid in a dog. *In vivo* 2008;22:759-61.
82. Spugnini EP, Mezzanotte F, Freri L, Betti G, Citro G, Baldi A. Cyproterone acetate-induced mammary carcinoma in two male cats. *J Feline Med Surg* 2010;12:515-6.
83. Spugnini EP, Pagotto A, Zazzera F, D'Avino A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Cutaneous T-cell lymphoma in an African hedgehog (*Atelerix albiventris*). *In vivo* 2008;22:43-5.
84. Spugnini EP, Vincenzi B, Betti G, Cordahi F, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Baldi A. Surgery and electrochemotherapy of a high-grade soft tissue sarcoma in a dog. *Vet Rec* 2008;162:186-8.
85. Spugnini EP, Vincenzi B, Caruso G, Baldi A, Citro G, Santini D, Tonini G. Zoledronic acid for the treatment of appendicular osteosarcoma in a dog. *J Small Anim Pract* 2009;50:44-6.
86. Spugnini EP, Vincenzi B, Citro G, Tonini G, Dotsinsky I, Mudrov N, Baldi A. Electrochemotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma in cats: a preliminary report. *Vet J* 2009;179:117-20.

87. Tonti E, Galli G, Malzone C, Abrignani S, Casorati G, Dellabona P. NKT cell help to B lymphocytes can occur independently of cognate interaction. *Blood* 2009;113:370-6.
88. Turco MC, Lamberti A, Bisogni R, Romano MF, Petrella A, Ammirante M, Rosati A, Davenia M, Arra C, Spugnini E, Bonelli P, Venuta S. Modulation of cell apoptosis by AIR. *Leukemia* 2008;22:229.